

ANNALES  
UNIVERSITATIS MARIAE CURIE-SKŁODOWSKA  
LUBLIN — POLONIA

VOL. XVII, 19

SECTIO D

1962

---

Katedra i Zakład Histologii i Embriologii. Wydział Lekarski.  
Akademia Medyczna w Lublinie  
Kierownik: prof. dr med. Stanisław Grzycki

Maciej LATALSKI

**Histochemiczne obserwacje grup sulfhydrylowych (SH) w komórkach  
pęcherzyka tarczycy**

**Гистохимические исследования сульфидрильных групп (SH)  
в клетках пузырька щитовидной железы**

**Histochemical Investigations on the Sulfhydryl (SH) Groups in the Cells  
of the Thyroid Vesicle**

Badania Goldsteina (1), przeprowadzone w warunkach doświadczalnych nad wątrobnami królików i szczurów wykazały, że nadczynność tarczycy powoduje zmniejszenie się ilości grup SH w tkankach, wzrasta natomiast przy niedoczynności tego gruczołu. Goldstein także wyraża pogląd, że hormon tarczycy w organizmie zwierzęcym może spełniać rolę podstawowego regulatora zdolności reaktywnej grup SH.

Szewies (5) badając poziom grup SH po zadziałaniu jodem promieniotwórczym  $J^{131}$  i metylotioracyłem obserwował wzrost poziomu grup SH w wątrobie szczurów pod wpływem tych preparatów.

Porównawcze badania Grosa i Kiernbergera (2) nad przemianą podstawową i grupami SH w krwi wykazały, że określanie glutationu może stanowić o diagnostyce chorób tarczycy. U ludzi zdrowych autorzy ci określali poziom glutationu w krwi na 40—50mg‰, przy czym w hipertyreozie stwierdzili mniej grup SH a w hipotyreozie więcej. Opisane różnice w poziomie glutationu autorzy tłumaczą wzmożonym zapotrzebowaniem na grupy SH w tkankach na skutek wzrostu procesów utleniania oraz zubożeniem wątroby w glikogen z następowym zmniejszonym wytwarzaniem glutationu. Jonderko (3) zauważył również znamienne różnice w ilości grup SH w krwi osób zdrowych płci męskiej, które miały więcej grup SH w porównaniu z kobietami. W nadczynności tarczycy poziom grup SH i wskaźnik glutationowy były obniżone i ulegały wyrównaniu po operacji tarczycy. Autor wyraził pogląd, że poziom glutationu i wartość wskaźnika glutationowego (G.SH: ilość hematokrytu i  $\times 10$ ) mogą być pomocne przy ocenie stanu czynnościowego tarczycy. Kollątaj (4) natomiast badając na zawartość grup SH

krwem dopływającą do tarczycy oraz krew wypływającą z tarczycy nie stwierdził istotnych różnic w poziomie tych grup. Autor przypuszcza, że gruczoł tarczycy sam nie wytwarza grup SH ani też nie pobiera tych grup w okresie syntezy wewnątrzkomórkowej swego hormonu.

W świetle cytowanych badań interesujące wydawało się ilościowe określenie poziomu grup SH w komórkach pęcherzyków tarczycy w warunkach doświadczalnych, po wstrzyknięciu szczurom białym hormonu tyreotropowego przysadki mózgowej.

#### MATERIAŁ I METODY BADAŃ

Badania przeprowadzono na 24 samicach szczurów białych (*Rattus rattus* L. *albino*) w wieku 3—4 miesięcy, wagi 120—150 g. Spośród zwierząt wyodrębniono grupę kontrolną i 5 grup doświadczalnych (wszystkie grupy po 4 szczury).

Zwierzętom doświadczalnym podano domięśniowo 50 j. m. hormonu tyreotropowego przysadki mózgowej w postaci preparatu *Ambinon* (fabr. Organon-Holandia). Materiał do badań pobierany po 24 godz. po iniekcji (I grupa doświadczalna), po 2 dniach (II grupa), po 3 dniach (III grupa), po 4 dniach (IV grupa) i po 5 dniach (V grupa) utrwalano w roztworze 1% kwasu trójchlorooctowego w 80% etanolu. Skrawki mikrotomowe grubości 5  $\mu$  po odparafinowaniu barwiono według metody Barnetta i Seligmána, używając jako barwnika czerni K. Preparaty zamykano w glicerożelu. W wyniku przeprowadzonego odczynu histochemicznego uzyskano zabarwienie grup SH na kolor ciemno brunatny. Jądra komórkowe i jąderka pozostawały nie zabarwione z wyjątkiem grupy V, gdzie odczyn barwny maskował jądra.

Stężenie grup SH określano na mikrofotometrze C. Zeiss II (Jena), przy stałej szczelinie, a więc zawsze na jednakową powierzchnię każdej komórki gruczołowej pęcherzyka tarczycy. Wartość ekstynkcji obliczano stosunkiem Sandrittera.

#### BADANIA WŁASNE

**Grupa kontrolna.** Komórki pęcherzyków tarczycy wykazywały na preparatach histologicznych odczyn barwny Barnetta i Seligmána niejednolity. Ograniczał się on tylko do połowy komórki skierowanej ku światłu pęcherzyka. Wartość ekstynkcji określana w tej części komórki wynosiła 1,8 (ryc. 2). Niekiedy obserwowano odczyn barwny nie tylko w górnej połowie komórki, ale także po jej bokach. Otaczał on wówczas jądro komórkowe z trzech stron, ale nie dochodził do dolnego bieguna komórki gruczołowej.

**Grupa doświadczalna I.** W tej grupie zwierząt komórki wyścielające pęcherzyki tarczycy były mniej intensywnie wybarwione czernią K niż w grupie kontrolnej. Odczyn barwny i w tym wypadku nie był równomiernie rozmieszczony w komórkach. Ograniczał się jedynie do części cytoplazmy komórek gruczołowych od strony światła pęcherzyków, zajmując jednak zawsze węższą przestrzeń w porównaniu z grupą kon-

trolną, choć nie we wszystkich komórkach równą. Wartość ekstynkcji określana w obrębie największego zabarwienia wynosiła 1,7 (ryc. 3).

**Grupa doświadczalna II.** Obraz mikroskopowy preparatów z tej grupy zwierząt mało odbiegał od obrazu, jaki obserwowano w grupie doświadczalnej I. Jedyne przestrzeń, na jakiej występowało zabarwienie świadczące o obecności grup SH w komórkach gruczołowych była nieco węższa. Wartość ekstynkcji określana przy górnym biegunie komórek wynosiła 1,5.

**Grupa doświadczalna III.** W materiale z tej grupy zwierząt, pobieranym w trzy dni po wstrzyknięciu hormonu tyreotropowego obserwowano się najmniejsze nasilenie odczynu barwnego na grupy SH. Określana ekstynkcja równała się wartości 1,4. Odczyn barwny występował w postaci wąskiej warstwy i umiejscowiony był w górnym biegunie komórek, układając się równolegle do światła pęcherzyków (ryc. 4). Na preparatach histologicznych z tej grupy widoczne były pęcherzyki duże, obficie wypełnione koloidem. Na podstawie tych obrazów można było nawet przypuszczać, że hormon tyreotropowy przysadki osiągnął szczyt swego działania.

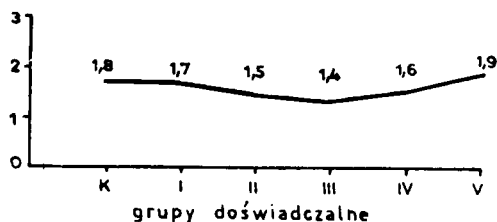
**Grupa doświadczalna IV.** Analiza mikroskopowa preparatów sporządzonych z tarczyc tej grupy zwierząt doświadczalnych wykazywała duże ich podobieństwo z preparatami grupy doświadczalnej II. Grupy SH wybarwiały się w tych samych miejscach komórek gruczołowych i zajmowały prawie taką samą przestrzeń. Wartość ekstynkcji określana w miejscach wybarwienia wynosiła 1,6.

**Grupa doświadczalna V.** Natężenie odczynu barwnego w komórkach pęcherzyków na preparatach tej grupy było najwyższe i wyrażało się ekstynkcją równą wartości 1,9. Obraz mikroskopowy tych preparatów wykazywał równomierne rozmieszczenie odczynu Barnetta i Seligmána w całych komórkach. Odczyn maskował jądra tych komórek (ryc. 5). Pęcherzyki tarczycy otoczone więc były grubą, obejmującą wysokość całej komórki gruczołowej ciemną warstwą, świadczącą o obecności grup SH w tych komórkach w obrębie całej cytoplazmy.

#### OMÓWIENIE WYNIKÓW BADAŃ I WNIOSKI

Wyniki przeprowadzonych badań wskazują na różną zawartość grup SH w komórkach pęcherzyków tarczycy pozostających pod wpływem hormonu tyreotropowego przysadki mózgowej. Wartości ekstynkcji świadczące o względnej zawartości grup SH w tych komórkach zmieniały się w zależności od czasu, jaki upłynął po podaniu hormonu i wynosiły się w cyfrach: 1,8, 1,7, 1,5, 1,4, 1,6, 1,9 (ryc. 1).

W zależności też od tych czynników, to jest hormonu i czasu, grupy SH różnie układały się w komórkach otaczających pęcherzyk tarczycy. Zajmując górną połowę cytoplazmy w grupie kontrolnej, po podaniu hormonu zabarwienie świadczące o obecności grup SH zwężało się w kierunku światła pęcherzyka, dochodząc do wąskiej warstewki w trzecim dniu po iniekcji. Następnie warstewka ta ponownie się poszerzała, wypełniając całą komórkę w pięć dni od czasu podania preparatu.



Ryc. 1. Na osi rzędnych wartości ekstynkcji, na osi odciętych poszczególne grupy zwierząt. Krzywa obniża się do grupy doświadczalnej III, gdzie ekstynkcja ma najniższą wartość, a następnie ponownie podwyższa się

Ordinate: extinction values; abscissa: separate groups of animals. Curve reaches lowest point at group III, where extinction value is smallest, then rises again.

Na podstawie przeprowadzonych obserwacji można było przypuszczać, że podany zwierzętom doświadczalnym hormon tyreotropowy (*Ambinon*) wykazał maksimum swego działania w trzy dni po wstrzyknięciu. Wówczas produkcja komórek gruczołowych osiągała szczyt i w plazmie ich pozostawało niewiele związków posiadających w swym składzie grupy SH. Wydaje się więc, że pod wpływem nagromadzenia hormonu tarczycy w komórkach wyścielających pęcherzyk część grup SH została utleniona do S-S. W następnych dniach, gdy hormon ten został wydzielony poza komórki gruczołowe znów można było wybarwić wzrastające ilości grup SH. Podobne wyniki do naszych świadczące o zmniejszeniu się ilości tych grup w tkance w okresie wzmożonej czynności gruczołu tarczowego uzyskali w pracach swoich Goldstein, Gros i Kiernberger.

#### PIŚMIENNICTWO

1. Goldstein M. I.: O biologicznych swych właściwościach sulfidrylnych grup tkankowych białek. Usp. Sown. Biol. **38**, 280, 1954.
2. Gros H., Kiernberger E. J.: Blutglutathion und Grundumsatzbestimmung bei der Diagnostik von Schilddrüsenerkrankungen. Deutsche Med. Wochenschrift. **44**, 1627—1629, 1954.
3. Jonderko G.: Glutathion krwinek czerwonych u zdrowych oraz w chorobach tarczycy. Pol. Arch. Med. Wew. **31**, 175—179, 1961.

4. Kołataj A. M.: praca niepublikowana.
5. Szewies G. C.: Glutation i askorbinowaja kislota w tkanjach krysz pri eksperymentalnom gipotireozie wyzwanom wwiedenijem radiojota ( $J^{131}$ ) i 6-metiltiouracila. *Biochimia*. 23, 80—86, 1958.

---

### РЕЗЮМЕ

Тиреотропный гормон гипофиза, вызывая усиленную деятельность щитовидной железы, приводит к накоплению гормона щитовидной железы в клетках пузырька этой железы. По мере увеличения количества гормона в этих клетках падает содержание SH групп в цитоплазме.

Уменьшение количества SH групп происходит в направлении от базиса клеток к их вершине. При максимальном накоплении гормона SH группы занимают лишь очень узкое пространство в верхних полюсах клеток.

Рис. 1. На оси ординат отложены значения экстинкции, на оси абсцисс — отдельные группы животных. Кривая падает до третьей опытной группы, где экстинкция минимальная, затем она снова возрастает.

Рис. 2. Щитовидная железа крысы. Контрольная группа. Интенсивная цветная реакция на SH—группы, заметна в верхней половине клеток а иногда также и по бокам. Микроскоп Ц. Цейсс (Йена) Nf. Объектив 40. Окуляр 10. Practina FX.

Рис. 3. Щитовидная железа крысы. Опытная группа I. Реакция Барнетта и Зелигмана наблюдается лишь в альвеолярных полюсах клеток и по сравнению с контролем занимает более узкое пространство. Микроскоп Ц. Цейсс (Йена) Nf. Объектив 40. Окуляр 10. Practina FX.

Рис. 4. Щитовидная железа крысы. Опытная группа III. Цветная реакция наблюдается в виде очень узкого слоя в верхнем полюсе клетки, параллельного просвету пузырька. Микроскоп Ц. Цейсс (Йена) Nf. Объектив 40. Окуляр 10. Practina FX.

Рис. 5. Щитовидная железа крысы. Опытная группа V. Интенсивная реакция по Барнетту и Зелигману равномерно распределена во всей цитоплазме клеток железы, маскирующая клеточные ядра. Микроскоп Ц. Цейсс (Йена) Nf. Объектив 40. Окуляр 10. Practina FX.

---

### SUMMARY

The thyreotropic hormone of the hypophysis intensifies the activity of the thyroid, which results in an accumulation of the thyroid hormone in the cells of the thyroid vesicle. The increase of the amount of the hormone in the vesicle cells is accompanied by a decrease in the number of the SH groups in the cytoplasm of these cells.

The decrease of the number of the SH groups occurs in the direction from the base of a vesicle cell towards its apex, so that when the accumulation of the thyroid hormone reaches its maximum the SH groups can be found only on a very narrow area in the upper poles of the cells, near the lumen of the vesicle.

---

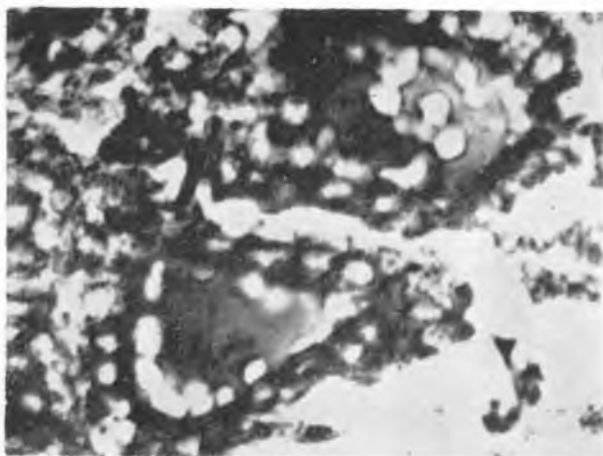
Papier druk. sat. III kl 80 gr  
Annales U.M.C.S. Lublin 1962.  
800 + 50 odbitek. N-4

70 x 100

Lub. Druk. Pras.—Lublin Unicka 4.

Druku 5 str. + 2 kr.  
Zam. 4943 10.XII.62.  
Data ukończ. druku 10.VI.63.

---

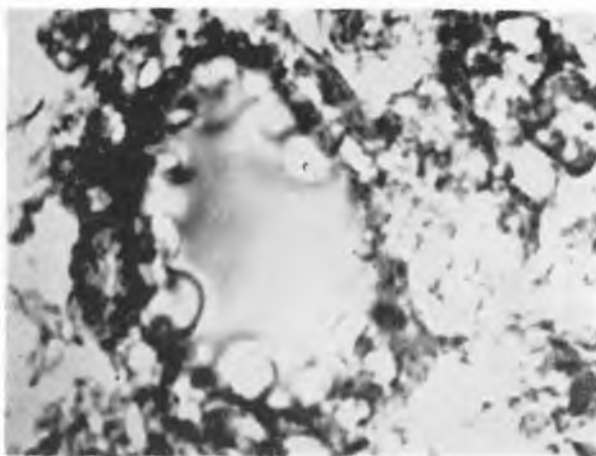


Ryc. 2. Tarczycza szczura. Grupa kontrolna. Odczyn barwny na grupy SH intensywny, umiejscowiony w górnej połowie komórek, a niekiedy również po bokach.

Mikroskop Nf. C. Zeiss (Jena), obiektyw 40, okular 10. Practina FX

Fig. 2. Thyroid of rat, control group. Intense staining reaction for SH groups, present in upper halves of cells, sometimes on sides as well. Microscope C. Zeiss

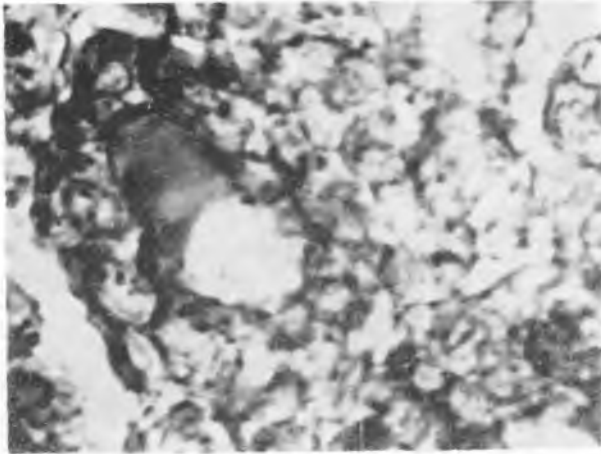
(Jena) Nf. Objective 40, Ocular 10. Practina FX



Ryc. 3. Tarczycza szczura. Grupa doświadczalna I. Odczyn Barnetta i Seligmana ogranicza się do pęcherzykowatego bieguna komórek, zajmując węższą przestrzeń w porównaniu z kontrolą. Mikroskop Nf. C. Zeiss (Jena), obiektyw 40, okular 10.

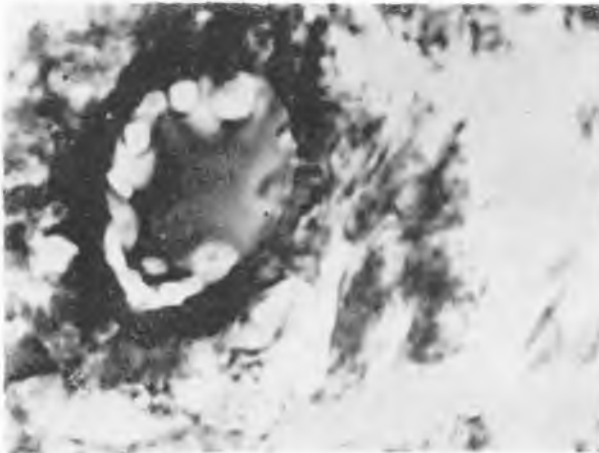
Practina FX

Fig. 3. Thyroid of rat, experimental group I. Barnett and Seligman's reaction is limited to vesicular pole of cells and takes in a narrower area than in control group. Microscope C. Zeiss (Jena) Nf. Objective 40, Ocular 10. Practina FX.



Ryc. 4. Tarczycza szczura. Grupa doświadczalna III. Odczyn barwny występuje w postaci bardzo wąskiej warstwy, umiejscowiony w górnym biegunie komórki, ułożony równoległe do światła pęcherzyka. Mikroskop Nf. C. Zeiss (Jena), obiektyw 40, okular 10. Practina FX.

Fig. 4. Thyro'id of rat, experimental group III. Staining reaction present in form of a very narrow layer localized in upper pole of cell, parallelly to lumen of vesicle. Microscope C. Zeiss (Jena) Nf. Objective 40, Ocular 10. Practina FX.



Ryc. 5. Tarczycza szczura. Grupa doświadczalna V. Odczyn Barnetta i Seligmana intensywny, równomiernie rozmieszczony w całej cytoplazmie komórek gruczołowych, maskujący jądra tych komórek. Mikroskop Nf. C. Zeiss (Jena), obiektyw 40, okular 10. Practina FX

Fig. 5. Thyroid of rat, experimental group V. Intense Barnett and Seligman's reaction, distributed uniformly over the whole cytoplasm of gland cells, masking the nuclei of cells. Microscope C. Zeiss (Jena) Nf. Objective 40, Ocular 10. Practina FX.